

This value became nearly twice as high 5 days after hepatectomy (49.9 units/mg wet liver tissue). Thereafter the GOT activity of the liver diminished and it reached almost normal values on the 30<sup>th</sup> postoperative day. Ligation of the choledochus was apt to cause some (further) increases in SGOT activity, both in normal and in hepatectomized rats. The underlying cause seemed to be re-absorption of transaminase from the bile.

On the basis of our observations, according to which transaminase content of the rat's liver and GOT activity of the serum reach double values and parallel the regeneration following subtotal hepatectomy, we suggest that newly formed cells of regenerating rat liver produce more GOT than normal liver cells. This factor seems to contribute to the prolonged elevation of SGOT in acute epidemic hepatitis, as well as to elevations reported in cirrhosis of the liver.

A. TISZAI and M. TÉNYI

1<sup>st</sup> Department of Medicine, University Medical School, Szeged (Hungary), July 1, 1959.

#### Zusammenfassung

Auf subtotale Hepatektomie (5. Tag) erfolgende Leberregeneration führt zu einer wesentlichen Erhöhung des SGOT-Wertes, mit Anstieg bis zum 10. Tag. Damit parallel verläuft auch die Transaminase-Aktivität der regenerierenden Leber.

#### Effets comparés de la $\beta$ -propiolactone et du formol sur les propriétés inductrices de l'organisateur chez les amphibiens

Chez les amphibiens, l'organisateur constitué par la lèvre dorsale du blastopore, possède la propriété d'induire des structures neurales dans l'ectoblaste compétent. HOLTGRETER<sup>1</sup> a montré que l'organisateur conserve ses propriétés inductrices après des traitements physiques et chimiques variés. Nous avons par ailleurs montré que, chez *Triton alpestris*, le formol inactive les propriétés inductrices de l'organisateur<sup>2</sup>. Ces résultats ont été étendus à d'autres espèces d'amphibiens. Les observations de YAMADA et TAKATA<sup>3</sup>, montrant que l'organisateur peut être inactivé par des enzymes protéolytiques telles que la trypsine et la chymotrypsine, favorisent l'idée d'une participation active des protéines au cours de l'induction embryonnaire. Le mode d'action du formol peut ainsi être examiné en fonction de ses réactions avec les protéines. Ces réactions<sup>4</sup> peuvent être groupées en deux catégories:

1<sup>o</sup> Les réactions du formol avec des groupements chimiques déterminés tels que les groupes amines, amides, imines notamment. Cette énumération n'est nullement exhaustive. Les noyaux cycliques des acides aminés aromatiques réagissent également avec le formol. Les effets du formol sur l'histidine et le tryptophane ont été tout particulièrement étudiés<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> J. HOLTGRETER, Arch. Entw. Mech. 128, 584 (1933).

<sup>2</sup> R. LALLIER, Exper. 6, 92 (1950).

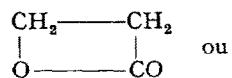
<sup>3</sup> T. YAMADA et K. TAKATA, Exp. Cell Res. Suppl. 3, 402 (1955).

<sup>4</sup> H. FRAENKEL-CONRAT et H. S. OLcott, J. biol. Chem. 174, 827 (1948).

<sup>5</sup> A. WADSWORTH et M. C. PANGBORN, J. biol. Chem. 116, 423 (1936).

2<sup>o</sup> La formation de liaisons croisées unissant par des ponts méthylènes des molécules adjacentes. Il en résulte des phénomènes de polymérisation entraînant une augmentation de stabilité des molécules protéiques.

Afin de déterminer l'importance relative de ces deux groupes de phénomènes au cours de l'inactivation de l'organisateur par le formol, nous avons étudié les effets de la  $\beta$ -propiolactone sur les propriétés inductrices de

l'organisateur. La  $\beta$ -propiolactone  ou

propanolide est la lactone de l'acide  $\beta$ -hydroxypropionique. Cette substance présente une forte réactivité vis-à-vis des groupes amines. Comme le formol, elle est capable d'inactiver les toxines protéiques en les transformant en toxoides dépourvus de toxicité<sup>6,7</sup>. Les toxoides obtenus avec la  $\beta$ -propiolactone floquent avec l'antisérum. Au contraire, les toxoides préparés par l'action du formol présentent d'importantes modifications dans leur réactivité vis-à-vis de l'antisérum<sup>8</sup>. L'absence de liaisons croisées dans les toxines traitées par la  $\beta$ -propiolactone serait responsable de ces différences. Nous nous sommes donc proposés d'étudier et de comparer les effets de la  $\beta$ -propiolactone et du formol sur les propriétés inductrices de l'organisateur.

Les expériences sont faites sur l'amphibiens *Ambystoma mexicanum*. Les organisateurs sont constitués par des lèvres blastoporales prélevées sur de jeunes gastrulas. Après cicatrisation, les organisateurs sont mis pendant 24 h dans une solution contenant 4 g de  $\beta$ -propiolactone pour 100 cm<sup>3</sup> d'alcool éthylique à 95°. Ils sont ensuite lavés pendant 3 h avec de l'alcool éthylique à 95° fréquemment renouvelé. Des organisateurs témoins sont traités par l'alcool éthylique à 95°. Quelques opérations sont faites avec des greffons fixés pendant 1 h dans l'alcool à 95° et traités pendant 2 h par une solution saturée de  $\beta$ -propiolactone dans le liquide de Holtfreter. Les organisateurs sont ensuite greffés dans le blastocèle de jeunes gastrulas. Les gastrulas opérées sont cultivées stérilement dans la solution de Holtfreter diluée au 1/10. Après 76 h les embryons sont examinés et fixés au liquide de Bouin, colorés *in toto* au carmin boracique, inclus à la paraffine et coupés à 10  $\mu$ . L'examen des coupes montre que les organisateurs traités par la  $\beta$ -propiolactone ont induit une volumineuse vésicule neurale dans 35 cas sur 40. Dans 5 cas les structures induites sont représentées par un épaississement ectodermique très volumineux. Les organisateurs traités par la  $\beta$ -propiolactone en milieu aqueux ont également induit une vésicule neurale. La  $\beta$ -propiolactone, dans les conditions expérimentales utilisées, ne supprime donc pas les propriétés inductrices de l'organisateur. La  $\beta$ -propiolactone diffère donc du formol qui inactive l'organisateur. Le formol possédant seul l'aptitude à former des liaisons croisées dans les molécules protéiques, il apparaît ainsi possible d'établir une relation entre cette propriété et l'inactivation du pouvoir induiteur. La formation de liaisons croisées en présence de formol entraîne en effet des modifications importantes dans la structure des protéines. Outre le blocage des groupes engagés dans la formation des liaisons, la structure physico-chimique des protéines est affectée profondément par des phénomènes de polymérisation entraînant

<sup>6</sup> M. RAYNAUD, J. BLASS et A. TURPIN, C. R. Acad. Sci., Paris 245, 862 (1957).

<sup>7</sup> E. S. ORLANS et V. E. JONES, Nature (London) 182, 1216 (1958).

<sup>8</sup> L. F. SCHUCHARDT, J. MUÑOZ et W. F. VERWEY, J. Immunol. 80, 237 (1958).

un accroissement de leur stabilité. On peut ainsi concevoir que le matériel inducteur puisse se trouver dans l'incapacité de réagir avec le tissu compétent, en raison du blocage de groupes réactifs spécifiques et des modifications de la taille moléculaire interférant avec les phénomènes de diffusion réglant le passage du matériel inducteur vers les tissus compétents. L'établissement de liaisons croisées entre le matériel inducteur et les structures cellulaires de l'organisateur peut également faire obstacle à sa diffusion vers les tissus compétents et par là contribuer à l'inactivation de l'organisateur.

Ces expériences ont été faites au laboratoire d'Embryologie et d'Anatomie de l'Université d'Amsterdam.

R. LALLIER

Centre National de la Recherche Scientifique et Station Zoologique, Villefranche-sur-Mer (France), le 15 décembre 1959.

### Summary

$\beta$ -propiolactone-treated dorsal lips of *Ambystoma mexicanum* are grafted in the blastocoele of young gastrulas. The inducing ability of dorsal lips is not altered. These results are compared with the effects of formaldehyde which suppress the inducing ability. An interpretation

of these facts is proposed. The cross-linking reactions which occur between formaldehyde and proteins may be important for the suppressing of the inductive ability by this agent.

### Influence de l'anaérobiose et de différentes tensions d'oxygène sur la libération d'histamine dans la réaction anaphylactique *in vitro*

Nous avons récemment mis en évidence une augmentation de la consommation d'oxygène par des tranches de poumon de cobaye sensibilisé, soumises à l'action de l'antigène dans des cupules de Warburg<sup>1</sup>. Nous avons également montré l'influence de métabolites du cycle de Krebs<sup>2,3</sup>, et d'inhibiteurs de la phosphorylation oxyda-

<sup>1</sup> H. MOUSSATCHÉ et A. PROUVOST-DANON, An. Acad. bras. Cienc. 28, XXIII (1956).

<sup>2</sup> H. MOUSSATCHÉ et A. PROUVOST-DANON, An. Acad. bras. Cienc. 29, XXX (1957).

<sup>3</sup> H. MOUSSATCHÉ et A. PROUVOST-DANON, Arch. Biochem. Biophys. 77, 108 (1958).

Tableau I

Action de différentes tensions d'oxygène sur la respiration et la libération d'histamine par des tranches de poumon de cobaye sensibilisé dans la réaction anaphylactique *in vitro*

Atmosphère	Temps d'incubation <sup>a</sup> min	Consommation d'oxygène <sup>b</sup>	Histamine libérée <sup>c</sup>			% Histamine libérée	
			Sans antigène (a)	Avec antigène (b)	(b-a)	Consommation d'oxygène	
100	50	6,34 ± 0,35 (4) <sup>d</sup>	0,0 (1)	2,9 ± 0,14 (4)	2,9	100	100
0	50	0,30 ± 0,18 (2)	0,0 (1)	0,0 ± 0,0 (4) <sup>f</sup>	0,0	5	0
100	50	7,71 ± 0,03 (4)	3,7 (1)	11,0 ± 1,3 (4)	7,3	100	100
0	50	0,14 ± 0,03 (2)	3,8 (1)	3,6 ± 0,3 (4) <sup>f</sup>	0,0	2	0
100	45	7,15 ± 0,18 (4)	2,0 (1)	6,4 ± 0,54 (4)	4,4	100	100
0	45	0,17 ± 0,12 (4)	2,7 (1)	2,3 ± 0,14 (4) <sup>f</sup>	0,0	2	0
100	55	5,55 ± 0,34 (3)	0,5 (1)	5,8 ± 0,57 (3)	5,3	100	100
0	25	0,21 ± 0,03 (2)		1,3 ± 0,1 (2) <sup>f</sup>	0,4	4	8
0	55	0,19 ± 0,10 (3)	0,9 (1)	1,1 ± 0,07 (3) <sup>f</sup>	0,2	4	4
100	45	7,12 ± 0,20 (3)	1,3 (1)	14,0 ± 0,6 (3)	12,7	100	100
0	15	0,32 ± 0,11 (3)		2,0 ± 0,17 (3) <sup>f</sup>	0,1	4	1
0	45	0,18 ± 0,03 (2)	1,9 (1)	1,9 ± 0,14 (2) <sup>f</sup>	0,0	2	0
100	40	6,99 ± 0,20 (4)	0,8 (1)	3,6 ± 0,25 (4)	2,8	100	100
0,7	40	0,18 ± 0,10 (4)	1,0 (1)	1,5 ± 0,06 (4) <sup>f</sup>	0,5	3	18
100	50	6,77 ± 0,27 (3)	1,0 (1)	6,0 ± 0,6 (3)	5,0	100	100
0,7	20	0,50 ± 0,03 (3)		2,3 ± 0,2 (3) <sup>f</sup>	1,1	7	22
0,7	50	0,46 ± 0,05 (3)	1,2 (1)	1,7 ± 0,07 (3) <sup>f</sup>	0,5	7	10
100	50	6,38 ± 0,13 (3)	1,0 (1)	10,4 ± 0,3 (3)	9,4	100	100
0,7	20	0,66 ± 0,03 (2)		2,9 ± 0,1 (2) <sup>f</sup>	1,6	10	17
0,7	50	0,56 ± 0,14 (3)	1,3 (1)	2,9 ± 0,3 (3) <sup>f</sup>	1,6	9	17
100	60	6,75 ± 0,17 (4)	0,7 (1)	4,8 ± 0,53 (4)	4,1	100	100
1,4	60	0,66 ± 0,10 (4)	1,1 (1)	2,0 ± 0,14 (4) <sup>f</sup>	0,9	10	19
100	45	7,27 ± 0,23 (4)	0,5 (1)	7,0 ± 0,37 (4)	6,5	100	100
1,4	45	0,80 ± 0,12 (4)	0,6 (1)	2,7 ± 0,22 (4) <sup>f</sup>	2,1	11	32
100	60	6,77 ± 0,10 (4)	0,7 (1)	2,7 ± 0,17 (4)	2,0	100	100
4,5	60	1,43 ± 0,17 (4)	1,1 (1)	2,1 ± 0,18 (4) <sup>f</sup>	1,0	21	50
100	60	5,96 ± 0,37 (4)	2,1 (1)	16,5 ± 0,94 (4)	14,4	100	100
4,5	45	1,86 ± 0,32 (2)		12,6 ± 1,7 (2) <sup>e</sup>	10,6	31	74
4,5	60	1,90 ± 0,15 (3)	2,0 (1)	12,9 ± 0,3 (3) <sup>f</sup>	10,9	32	75
100	60	6,25 ± 0,32 (4)	1,6 (1)	10,1 ± 0,38 (4)	8,5	100	100
10	60	3,80 ± 0,29 (4)	1,2 (1)	9,7 ± 0,2 (4)	8,5	61	100
100	60	6,26 ± 0,18 (4)	0,0 (1)	3,3 ± 0,25 (4)	3,3	100	100
10	60	3,25 ± 0,19 (4)	0,0 (1)	3,3 ± 0,62 (4)	3,3	52	100
100	60	5,99 ± 0,19 (4)	1,8 (1)	12,8 ± 1,0 (4)	11,0	100	100
11,2	60	2,93 ± 0,34 (4)	2,0 (1)	12,6 ± 1,5 (4)	10,6	49	96
100	60	6,38 ± 0,47 (4)	1,7 (1)	10,9 ± 1,5 (4)	9,2	100	100
21	60	4,85 ± 0,27 (4)	1,9 (1)	12,2 ± 1,8 (4)	10,3	76	112

<sup>a</sup> Temps d'incubation avant l'addition de l'antigène.

<sup>b</sup> Consommation d'oxygène pendant les 30 min suivant l'addition d'antigène, et calculée en  $Q_{O_2}$ .

<sup>c</sup> En  $\mu\text{g}$  de bichlorhydrate d'histamine/g tissu humide.

<sup>d</sup> Moyenne ± déviation standard. Entre parenthèses nombre de cupules de Warburg.

<sup>e</sup> Différence significative ( $P < 0,05$ ).

<sup>f</sup> Différence hautement significative ( $P < 0,01$ ).